The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	補体による溶血反応における膜傷害に必要なヒット数
Author(s)	竹田, 潤二
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35433
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【16】

氏名・(本籍)	竹田潤二（たけだ じゅんじ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7342 号
学位授与の日付	昭和61年5月12日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**補体による溶血反応における膜傷害に必要なヒット数**
論文審査委員	(主査) 教授 井上 公蔵 (副査) 教授 藤尾 啓　教授 濱岡 利之

論文内容の要旨

［目　的］

ヒツジ感作血球（ＥＡ）を免疫溶血させるのに，最低何分子の補体分子がいるかは，古来Mayerのone hit説以来論議のあるところである。一般には，補体量を変量させそれと溶血の度合との関係から，one hitかmulti hitを判断しているが，我々は，一定の補体量にＥＡを変量させ，それと溶血の度合から，ヒット数を算出する方法をもちいた。この解析方法で，横軸に加えた血球数，縦軸に溶血した血球数をとると，one hitの場合でその曲線は，$y=0$でない，ある水平漸近線に向かっていくが，multi hitの場合，その曲線の漸近線は$y=0$のはずである。そして，ヒット数が増すほどその曲線の上に凸の度合は強い。これらのことは，ポアソン分布から導きだされる理論式によって説明される。補体の各ステップ，特にＣ８，Ｃ９ステップを実際アッセイしてみて，それと上記の理論式と比較して各ステップのヒット数を決定しようとした。

［方　法］

1. ＥＡＣ１－７gp cellあるいは，ＥＡＣ１－７hu cellの調整；

まず，ＥＡＣ１－３bgp cellをＥＡとモルモット血清を抗補体作用のあるＫ－76モノカルボン酸の存在下で調整し，それにCordis社のＣ５gp，Ｃ６gp，Ｃ７gpをそれぞれ100ＣＨ50unit／4×10^8ＥＡＣ１－３b cellを加えて，30℃ 30min incubationしてＥＡＣ１－７gp cellを得た。ＥＡＣ１－７hu cellはＥＡＣ１－７gpと同様の方法で正常ヒト補体血清，Ｃ５hu，Ｃ６hu，Ｃ７huをもちいて調整した。

2. Ｃ８，Ｃ９ステップの解析；

Ｃ８gpのアッセイは反応液１mlの中で種々の量のＥＡＣ１－７gp cellと過剰のＣ９gpを加え，限界量のＣ８gpを一定にし37℃ 90min incubationし，cold ＳＧＶＢを１ml加え反応をストップさせ，遠沈し，その上清の吸光度より溶血の度合を算出する。縦軸に溶血したcell数，横軸に加えたＥＡＣ１－７gp数をとりグラフを書き，理論曲線と比較する。Ｃ９gp，Ｃ８hu，Ｃ９huは，Ｃ８gpアッセイに準じて行う。

3. 正常ヒト補体血清（ＮＨＳ）ならびにヒトＣ９欠損補体血清（Ｃ９ＤＨＳ）による

ＥＡの溶血の解析；種々の量のＥＡを限界量で一定量のＮＨＳ，あるいはＣ９ＤＨＳと37℃ 90min incubationする。１mlのcold ＳＧＶＢで反応をストップさせ遠沈し，上清の吸光度を測定する。

［結　果］

1. Ｃ８gp，Ｃ９gp，Ｃ８huはone hitに一致した溶血曲線を描き，Ｃ９huは理論曲線に比較して３－５ hitsに一致した曲線を描いた。
2. ＮＨＳにおいてはone hitであったが，Ｃ９ＤＨＳではmulti hitであった。

Ｃ９ＤＨＳがmulti hitであることは，Ｃ９ＤＨＳ中のトレースのＣ９によるものではない。つまり抗ヒトＣ９抗体をアッセイに加えても，なんら溶血曲線に影響を与えないし，Ｃ９ＤＨＳをロケット免疫泳動においてＣ９が検出できなかったことより確かめられる。

［総　括］

1. ＥＡを溶血させるためには，最低限１分子のＣ８gp，Ｃ９gp，Ｃ８huがあればよいがＣ９huの場合３－５分子必要である。
2. ＮＨＳを使用した場合one hitになるから，ＥＡを溶血させるとき，補体による膜侵襲複合体は１個だけで充分で，血清中でＣ９huは限界になっていない。Ｃ９ＤＨＳはmulti hitを描くから，Ｃ９非存在下の膜侵襲複合体による溶血反応は，Ｃ９存在下の場合と根本的に機構が異なると考えられる。

論文の審査結果の要旨

本研究はモルモットおよびヒト補体成分Ｃ８，Ｃ９ステップのヒット数を標的細胞を感作ヒツジ赤血球をもちいて新しい解析方法で検討したものでモルモットＣ８，Ｃ９ヒトＣ８は明らかにワンヒットであり，ヒトＣ９は３－５ヒットであった。正常ヒト血清（Ｃ１からＣ９まで含む）をもちいた解析ではワンヒットになったので感作ヒツジ赤血球を溶血させる時に膜侵襲複合体は一つだけで充分で，しかも血清中でＣ９は限界になっていない。一方，Ｃ９欠損血清（Ｃ１からＣ８まで含む）においてはマルチヒットになりＣ１からＣ８までの溶血はＣ１からＣ９までの溶血と根本的にメカニズムが異なると考えられる。

以上の研究結果は，補体による細胞膜侵襲機構の解明に貢献する所が大きく学位論文に価すると考えられる。